

**Untersuchungen über den Einfluß
des Chloroquins auf den
Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebenniere**

Horst Friedrich Haas

1961

AUS DER
MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

**Untersuchungen über den Einfluß
des Chloroquins auf den
Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebenniere**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Horst Friedrich Haas
aus Wallerstein/Nördlingen

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: 27.6.1961



M E I N E N E L T E R N



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
PROBLEMATIK	7
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	8
Methodik	9
1. Versuchsreihe	12
2. Versuchsreihe	14
Statistische Auswertung	22
BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	28
ZUSAMMENFASSUNG	29
LITERATURVERZEICHNIS	30

MATHIES und Mitarbeiter (1-6) haben in früheren Arbeiten die Wirkungsweise verschiedener Substanzen in Bezug auf ihre hemmende Wirkung auf das durch Hyaluronidase ausgelöste Spreading näher untersucht. Sie stellten am Beispiel der Salicylate, des Chlor-aethyl-benz-methoxazons, des Prednisolons und der Moorbäder fest, daß die hemmende Wirkung auf das Hyaluronidase-spreading nur bei intakten und hypophysektomierten Ratten deutlich ist. Bei adrenaletomierten Tieren konnte dagegen keine signifikante Hyaluronidasehemmung sichtbar gemacht werden. Man nahm nun an, selbst unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Adrenaletomie an sich schon einen Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität ausübt, daß die Nebenniere für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung erforderlich ist. Hierbei blieb die Frage zu klären, ob die Nebennierenrinde oder das Nebennierenmark die Voraussetzung für die Auslösung eines hyaluronidasehemmenden Effektes darstellt. Wie die Untersuchungen von DOMENJOZ (7), MATHIES (5) und JUNG (8) zeigen, bleibt der Ascorbinsäuredepletionseffekt der Nebennieren, den SAYERS und SAYERS (9) als Ausdruck für die Nebennierenrindenaktivität werten, unter den genannten hyaluronidasehemmenden Substanzen bei hypophysektomierten Ratten aus. Die Tatsache, daß nach Hypophysektomie gleichzeitig die hyaluronidasehemmende Wirkung erhalten bleibt, führte zu dem Schluß, daß die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch die in vivo entsprechend wirksamen Substanzen eine Nebennierenfunktion ist. Gestützt wird diese Ansicht durch Untersuchungsergebnisse von MATHIES, GLÜCK, POULANTZAS und SCHMIDT (10), die bei intakten Ratten nach Gaben des Adrenolytikums Ergotamintartrat ein Ausbleiben der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Natriumsalicylates, des Prednisolons, des Oestransulfates und der Moorbäder feststellten. Zu dem gleichen Ergebnis beim Menschen kamen MATHIES und VOGEL (11) bei der Untersuchung des Phenylbutazons. Weiter wurde von MATHIES und Mitarbeitern (10, 12) festgestellt, daß die Nebennierenmark-katecholamine, Adrenalin und Noradrenalin, nicht nur bei intakten, sondern auch bei adrenaletomierten Ratten eine hyaluronidasehemmende Wirkung gleicher Größenordnung ergeben. Diese Wirkung ist nach MATHIES, GLÜCK, POULANTZAS und SCHMIDT (10) bei der Ratte und nach MATHIES und WEISS (13) beim Menschen ebenfalls durch Ergotamintartrat aufzuheben.

Weitere Untersuchungen, die die Beeinflussung des Nebennierenmarkes durch hyaluronidasehemmende Substanzen aufklären sollten, liegen von SCHWALBACH (14) und OESTREICH (15) vor. Sie stellten fest, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung von Natriumsalicylat, Phenylbutazon, Prednisolon, Oestransulfat und Moorbädern durch Ganglienblocker aufgehoben wird. Ganglienblocker blockieren nach EICHHOLTZ (16) das Nebennierenmark. Da nach OESTREICH (15) die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalin und Noradrenalin durch das Ganglioplegikum Pendiomid nicht blockiert wird, bilden die Untersuchungen eine weitere Stütze für die Annahme einer über das Nebennierenmark laufenden Wirkung der Hyaluronidasehemmung.

WILL (17) wies die hyaluronidasehemmende Wirkung des Chloroquins nach, das in letzter Zeit therapeutisch vielfach als Resochin bei chronischer Polyarthrits angewandt wird. MATHIES (18) hat auf die Bedeutung hyaluronidasehemmender Substanzen in der Therapie rheumatischer Erkrankungen ausführlich hingewiesen. Es war demnach interessant, den Wirkungsmechanismus auch dieser Substanz näher zu untersuchen. Auffällig war, daß nach den Versuchsergebnissen von WILL (17) auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität nachweisbar ist. Bei entsprechender Versuchsanordnung kann der hyaluronidasehemmende Effekt des Chloroquins jedoch durch Ergotamintartrat und Pendiomid aufgehoben werden. Nach diesen Untersuchungsergebnissen ist die Rolle des Nebennierenmarkes im Wirkungsablauf der Hyaluronidasehemmung nach Chloroquin nicht eindeutig. Vielleicht muß ein zweifacher Weg angenommen werden. Die Untersuchungen über die Beeinflussung des Katecholamingehaltes der Nebennieren durch Chloroquin liegen bisher nicht vor. Da aber hieraus gewisse Rückschlüsse auf eine Aktivierung des Nebennierenmarkes mit Ausschüttung von Katecholaminen gezogen werden können, wurden in der vorliegenden Arbeit entsprechende Untersuchungen angestellt.

MATHIES und Mitarbeiter (3, 4, 19) haben bei Salicylaten und Glukocorticoiden sowie bei Chloraethyl-benz-methoxazon mit der Methode von BRÜGGE-MANN, KARG und KÄPELER (20) bereits einen signifikanten Abfall des Katecholamingehaltes der Nebenniere feststellen können, aus dem eine Ausschüttung ins Blut abzuleiten ist. Die mit der gleichen Methodik ausgeführten Untersuchungen mit Chloroquin gestatten im gleichen Arbeitsgang eine Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere. Ein Abfall des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere gibt nach SAYERS und SAYERS (9) einen Aufschluß über eine etwaige Stimulierung der Nebennierenrinde. Dadurch war es möglich auch im Falle des Chloroquins den Einfluß auf die Nebennierenrindenaktivität zu studieren.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Versuche, deren Ergebnisse nachstehend in Tabellen zusammengestellt und statistisch ausgewertet wurden, dienten der Untersuchung der Frage, in welcher Weise der Katecholamin- und der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren von Ratten durch subkutane Injektion von 5 mg Resochin beeinflusst werden kann. Darüber hinaus war zu prüfen, in welcher Weise eine eventuelle Wirkung von Resochin zeitlich abläuft.

Die Versuche wurden an männlichen weißen Ratten im Gewicht von 80 g bis 160 g durchgeführt. Den Tieren wurde in Äthernarkose 5 mg Resochin subcutan gespritzt, wobei jede Ratte an den Tagen vor den Versuchen mehrmals an die Narkose gewöhnt wurde. Jeweils zu bestimmten Zeiten nach Applikation von Resochin wurden die Versuchstiere dekaptiert und anschließend der Katecholamin- und der Ascorbinsäuregehalt ihrer Nebennieren bestimmt. Im einzelnen wurde die Dekapitation zu den nachstehenden Zeiten nach der Injektion durchgeführt, nämlich

30', 60', 90', 120' u. 150' p.i.

Wir werden diese Zeitpunkte weiterhin kurz als "Versuchs-Zeiten" bezeichnen.

Um die Wirkung der Applikation von Resochin beurteilen zu können, war es notwendig, auch noch den Katecholamin- und den Ascorbinsäuregehalt unbehandelter Tiere, sogenannter "Leer-Tiere", zu bestimmen.

Die Bestimmung des Katecholamin- und des Ascorbinsäuregehaltes zu den "Versuchs-Zeiten" sowie bei den "Leer-Tieren" werden wir weiterhin als die "Versuchs-Stufen" bezeichnen.

Die von BRÜGGEMANN, KARG und KÄPPELER angegebene, abgewandelte Methode diente zur Ermittlung des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes. Diese Methode erfaßt allerdings die Gesamtkatecholamine, wobei Adrenalin und Noradrenalin bei der photometrischen Bestimmung die gleichen Extinktionswerte liefern! Die Untersuchungen von HÖKFELT (21) ergaben, daß der normale Noradrenalinanteil an den Gesamtkatecholaminen des Nebennierenmarks der Ratte 14 %, der des Adrenalins 86 % beträgt. Es ist aber bekannt, daß bei Gabe verschiedener Substanzen die Ausschüttung des Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark nicht unbedingt im gleichen Verhältnis reagiert, doch sind die Verschiebungen relativ gering, so daß auch die Bestimmung der Gesamtkatecholamine brauchbare Ergebnisse hinsichtlich der quantitativen Verhältnisse der Adrenalindynamik des Nebennierenmarks liefert.

Nach der Dekapitation der Ratten wurden beide Nebennieren sofort entnommen und von den umgebenden Geweben freipräpariert. Um eine Austrocknung zu vermeiden wurden die Nebennieren eilig einzeln gewogen und dann sogleich in einem 10 ml fassenden Zentrifugenglas, in welchem 5 ml Trichloressigsäure vorgelegt waren, mit ca. 50 mg Celite 535 und etwas Quarzsand verrieben. Dann wurde das Ganze 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, darauf der Überstand dekantiert und davon 2 ml zweimal in je ein Reagenzglas abpipettiert. Beide Proben wurden mit 0,1 ml Bromwasser (gesättigte Lösung: 3,5 g ad 100 ml aqua dest.) und nach kurzem Schütteln innerhalb von 5 bis 10 Sekunden (!) 0,1 ml Anilin (3 Vol. % in 9 n H_2SO_4) versetzt. Nach Schütteln wurden 0,5 ml Dinitrophenylhydrazin (2%ige Lösung in 9 n H_2SO_4) zugegeben. Anschließend wurde die Probe I genau 5 Minuten in siedendem Wasser erhitzt und dann mit der Probe II in

ein kaltes Wasserbad getaucht und vorsichtig 5 ml 70%ige H_2SO_4 zugegeben.

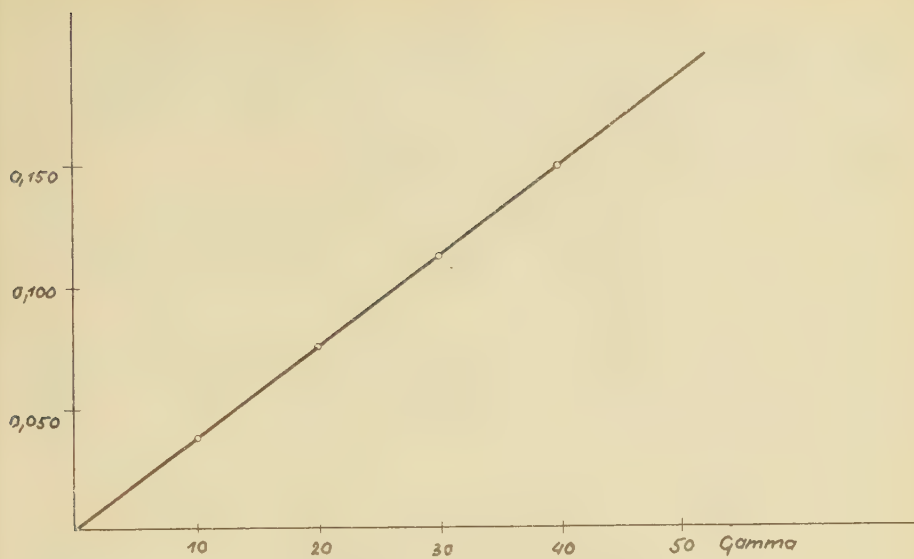
Die Extinktion wurde in 1 ccm Cuvetten im ELKO II Photometer mit Filter 530 $\text{m}\mu$ gegen Blindwert abgelesen. Der Blindwert wurde durch das gleiche Verfahren, jedoch ohne Drüse ermittelt.

Die Umrechnung der erbrachten Extinktionswerte auf die enthaltenen Katecholamin- und Ascorbinsäuremengen machte die Anfertigung einer Eichkurve notwendig. Hierzu wurde das gleiche Verfahren mit bestimmten 1-Adrenalin- und 1-Ascorbinsäuremengen auf 5 ml Ausgangslösung statt Nebennieren angewandt.

An Hand dieser Eichkurven (Abb. 1) wurde dann der Katecholamin- und der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren bestimmt. Der Gehalt an Katecholaminen wurde auf 100 g Tiergewicht bezogen. Nach HÖKFELT (21) ist der Adrenalingehalt der Nebennieren nicht auf das Nebennierengewicht zu beziehen, sondern auf das Körpergewicht der Ratten. Der Katecholamingehalt der Nebennieren steht in ziemlich gleichbleibendem Verhältnis zum Körpergewicht, während das Nebennierengewicht in weitem Grenzen schwankt. Diese Gewichtsunterschiede gehen auf Kosten eines unterschiedlichen Gewichts der Nebennieren-Rinde, bei gleichbleibendem Nebennieren-Markgewicht.

Die Ascorbinsäurewerte wurden auf 1 mg Nebennierengewicht bezogen.

a) Eichkurve für Katecholamin



b) Eichkurve für Ascorbinsäure

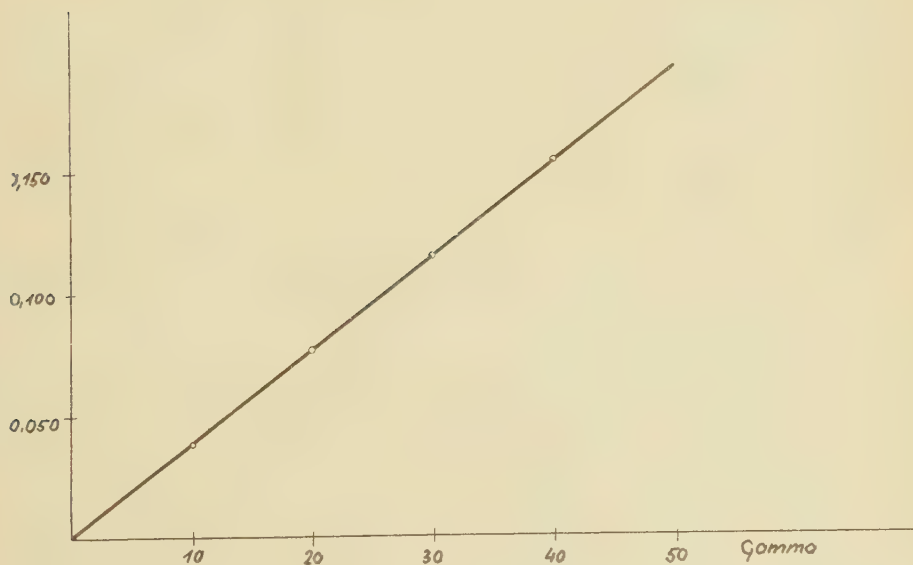


ABBILDUNG 1

1. Versuchsreihe

Sie dient der Bestimmung des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren von unbehandelten, normalen männlichen weißen Ratten. Die Werte sind in Tabelle 1 zusammengefaßt und ergeben einen Mittelwert von 22,80 μ g Gesamtdrenalin (Katecholamin) bezogen auf 100 g Tier und 3,99 μ g Ascorbinsäure bezogen auf 1 mg Nebenniere.

Vers. No:	Tiergewicht in g	Gewicht der Nebennieren li. re. li.+re. in mg	Katechol- amingeh. in %	Ascorbin- säuregeh. in %	Katecholamin- gehalt in % bezogen auf 100 g Tier- gewicht	Ascorbinsäure- gehalt in % bezogen auf 1 mg Neben- nierengewicht
14	104	6,0	9,7	15,7	22,5	70,0
15	97	11,2	11,0	22,2	22,5	21,63
16	100	4,5	4,9	9,4	18,6	23,19
44	80	6,6	7,6	14,2	20,5	18,60
45	95	11,1	8,5	19,6	18,0	60,0
46	85	6,2	5,5	11,7	20,5	25,62
47	96	10,4	9,8	20,2	27,6	18,94
69	80	6,8	6,8	13,6	18,5	24,11
70	95	4,8	7,8	12,6	20,5	87,0
71	100	6,5	7,5	14,0	22,5	28,75
Arithmetisches Mittel					($\bar{x}$)	23,12
						21,75
						22,50
						4,01
						4,30
						4,21
						3,41
						3,78
						4,45
						3,51
						3,82
						4,22
						4,18
						4,01
						4,30
						4,21
						3,41
						3,78

TABELLE 1
Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebennieren unbehandelter Ratten

2. Versuchsreihe

Zeigt zu verschiedenen Zeiten die Veränderung des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren von männlichen, weißen Ratten nach subkutaner Injektion von 5 mg Resochin in 0,35 ccm aqua bidest.

Die Ratten wurden in Narkose gespritzt, wobei die Tiere jeweils in den Tagen vor den Versuchen mehrmals an die Äthernarkose gewöhnt wurden. Die Injektion wurde in der Haut über den Bauchdecken vorgenommen.

- a) Der Katecholamingehalt beider Nebennieren beträgt 30 Minuten nach der Injektion von Resochin 24,84 μ bezogen auf 100 g Tier. Der Ascorbinsäuregehalt 3,36 μ auf 1 mg Nebenniere (Tabelle 2).
- b) Nach 60 Minuten findet sich ein Mittelwert von 26,15 μ Katecholamin pro 100 g Tier und 3,79 μ Ascorbinsäure pro 1 mg Nebenniere (Tabelle 3).
- c) 90 Minuten nach subkutaner Injektion fällt der Mittelwert des Katecholamins auf 18,83 μ pro 100 g Tier, der der Ascorbinsäure auf 3,00 μ /1 mg Nebenniere (Tabelle 4).
- d) Bei den 120 Minuten nach der Injektion untersuchten Tieren zeigt sich ein Mittelwert von 18,37 μ Katecholamin/100 g Ratte sowie 3,18 μ Ascorbinsäure/1 mg Nebenniere. (Tabelle 5)
- e) 150 Minuten nach s. c. Injektion von 5 mg Resochin stiegen die Werte wieder auf 22,31 μ Katecholamin/100 g Tier und 3,49 μ Ascorbinsäure/1 mg Nebenniere (Tabelle 6).

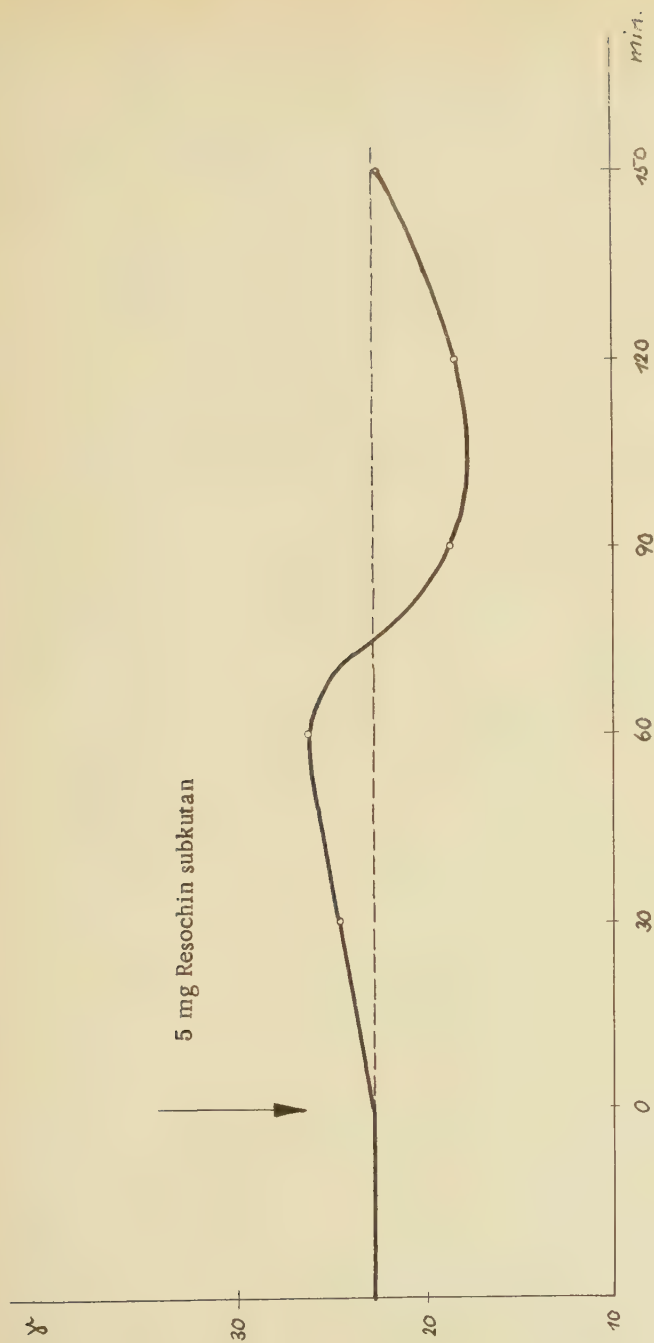


ABBILDUNG 2

Kurve des Katecholamingehaltes
der Nebennieren nach s. c. In-
jektion von 5 mg Resochin

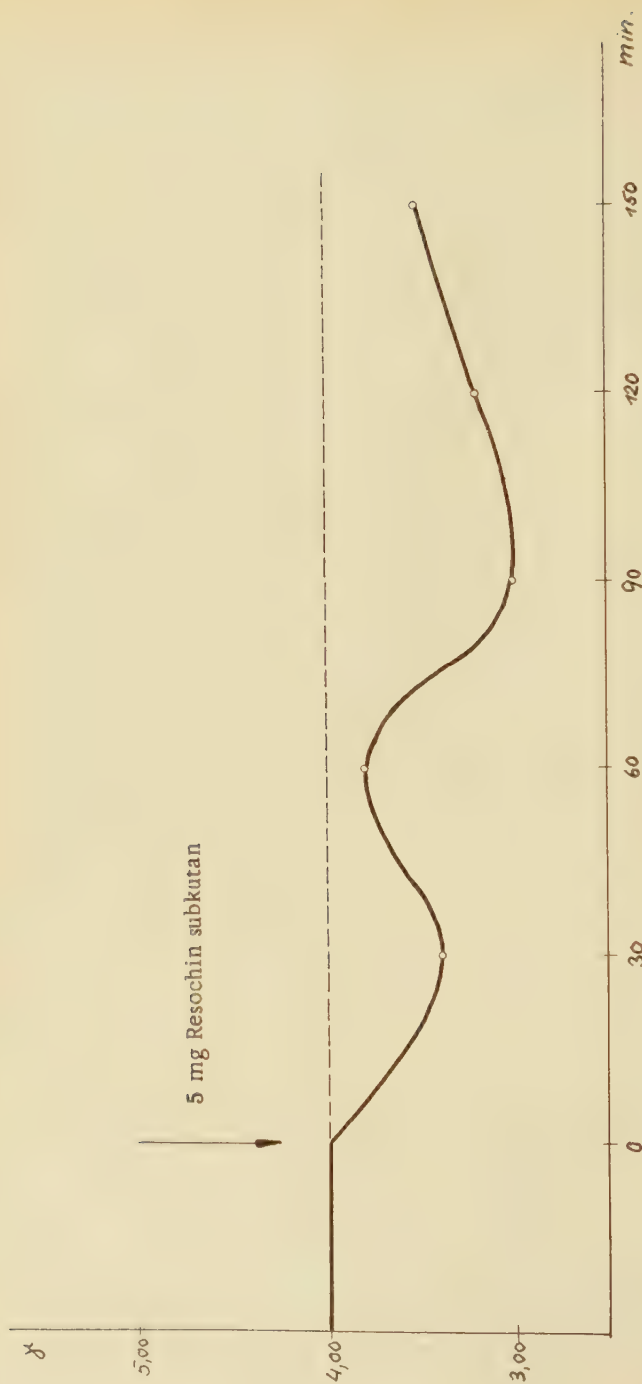


ABBILDUNG 3

Kurve des Ascorbinsäuregehaltes
der Nebennieren nach s. c. In-
jektion von 5 mg Resochin

Vers. No:	Tiergewicht in g	Gewicht der Nebennieren		Katechol- amingeh. in γ	Ascorbin- säuregeh. in γ	Katecholamin- gehalt in γ bezogen auf 100 g Tier- gewicht	Ascorbinsäure- gehalt in γ bezogen auf 1 mg Neben- nierengewicht
	li.	re.	li. + re.				
		in mg					
17	165	17,0	34,0	33,0	113,5	19,64	3,33
18	114	20,1	42,3	32,9	151,0	28,85	3,57
20	175	13,9	27,3	39,0	106,5	22,28	3,90
21	164	13,3	28,9	44,5	88,0	27,13	3,02
24	170	14,8	32,4	43,5	88,0	25,58	2,72
25	123	16,2	33,9	29,5	117,0	23,98	3,45
26	98	9,3	17,9	23,5	63,5	23,94	3,54

Arithmetisches Mittel

($\bar{x}$)

24,48

3,36

TABELLE 2

Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebennieren 30 Minuten nach s. c.
Injektion von 5 mg Resochin

Vers. No:	Tiergewicht in g	Gewicht der Nebennieren		Katechol- amengeh. in γ	Ascorbin- säuregeh. in γ	Katecholamin- gehalt in γ bezogen auf 100 g Tier- gewicht	Ascorbinsäure- gehalt in γ bezogen auf 1 mg Neben- nierengewicht
		li.	re. in mg	li. + re.			
35	108	15,5	16,5	32,0	130,0	25,00	4,06
36	98	17,1	13,0	30,1	121,0	29,69	4,02
38	104	17,1	19,9	37,0	135,0	24,51	3,64
39	113	10,2	11,0	21,1	76,5	28,67	3,60
41	119	14,8	14,0	28,8	106,0	27,73	3,68
42	142	15,7	12,1	27,8	117,0	20,70	4,08
43	114	10,1	15,5	25,6	90,0	26,75	3,51

Arithmetisches Mittel

 $(\bar{x})$

3,79

TABELLE 3

Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebennieren 60 Minuten nach s. c.
Injektion von 5 mg Resochin

Vers. No:	Tiergewicht in g	Gewicht der Nebennieren li. re. li. + re. in mg	Katechol- amingeh. in γ	Ascorbin- säuregeh. in γ	Katecholamin- gehalt in γ bezogen auf 100 g Tier- gewicht	Ascorbinsäure- gehalt in γ bezogen auf 1 mg Neben- nierengewicht	
62	120	11,0	11,8	22,8	19,5	72,0	3,19
63	115	12,2	11,1	23,3	23,0	61,0	2,64
64	145	11,9	10,5	22,4	26,5	67,5	3,01
65	87	12,3	12,1	24,4	17,5	80,5	3,30
66	110	10,9	12,2	23,1	20,0	59,5	2,57
67	125	12,1	9,0	21,1	22,0	60,0	2,84
68	140	16,0	13,4	29,4	30,0	102,0	3,47

Arithmetisches Mittel

($\bar{x}$)

18,83

3,00

TABELLE 4

Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebennieren 90 Minuten nach s. c.
Injektion von 5 mg Resochin

Vers. No:	Tiergewicht in g	Gewicht der Nebennieren li. re. li. + re. in mg	Katechol- am. in γ	Ascorbin- säuregeh. in γ	Katecholamin- gehalt in γ bezogen auf 100 g Tier- gewicht	Ascorbinsäure- gehalt in γ bezogen auf 1 mg Neben- nierengewicht
74	155	8,5	14,4	22,9	16,77	3,62
75	118	8,0	8,7	16,7	18,64	2,61
76	148	10,4	12,2	22,6	16,21	2,85
78	160	12,5	11,7	24,3	20,26	3,41
79	115	9,6	14,0	23,6	18,69	3,13
80	135	10,0	10,0	20,0	21,11	3,20
81	160	13,8	13,2	27,0	16,56	3,44

Arithmetisches Mittel

($\bar{x}$)

18,37

3,18

TABELLE 5

Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebennieren 120 Minuten nach s. c.
Injektion von 5 mg Resochin

Vers. No:	Tiergewicht in g	Gewicht der Nebennieren li. re. li. + re. in mg	Katechol- amingeh. in γ	Ascorbin- säuregeh. in γ	Katecholamin- gehalt in γ bezogen auf 100 g Tier- gewicht	Ascorbinsäure- gehalt in γ bezogen auf 1 mg Neben- nierengewicht
85	160	12,5	11,7	24,2	33,0	83,0
86	154	12,3	13,6	25,9	32,0	72,0
87	159	12,0	11,2	23,2	30,0	96,0
88	138	10,0	12,2	22,2	42,0	67,5
92	128	13,2	13,9	27,1	27,5	104,5
93	160	14,5	14,7	29,2	31,5	121,0
94	140	13,7	13,4	27,1	34,0	85,0

Arithmetisches Mittel

($\bar{x}$)

22,31

3,49

TABELLE 6

Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt
der Nebennieren 150 Minuten nach s. c.
Injektion von 5 mg Resochin

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse gingen wir von der Annahme aus, daß innerhalb jeder Versuchsstufe der Katecholamin- bzw. der Ascorbinsäuregehalt normal verteilt ist. Aufgabe der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse war es zu prüfen, ob zwischen den Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, Unterschiede bestehen. Jede Normalverteilung ist durch 2 Parameter charakterisiert, nämlich ihren Erwartungswert μ und ihre Varianz σ^2 . Die statistische Analyse läuft somit darauf hinaus zu untersuchen, ob die Parameter, die zu verschiedenen Versuchsstufen gehören, verschieden sind.

Die Ergebnisse über den Katecholamin- bzw. den Ascorbinsäuregehalt der innerhalb einer Versuchsstufe beobachteten Versuchstiere, faßten wir als eine Stichprobe aus der zugehörigen Normalverteilung der Versuchsstufe auf. Das arithmetische Mittel $\bar{x}$ dieser Meßwerte ist dann ein Schätzwert für den Erwartungswert dieser Normalverteilung; die empirische Varianz s^2 zwischen diesen Meßwerten ist ein Schätzwert für die Varianz σ^2 dieser Normalverteilung. Die errechneten Schätzwerte sind in der Tabelle 7 zusammengestellt; außerdem ist dort auch die Anzahl "N" der jeweils beobachteten Versuchstiere angegeben.

Wir untersuchten zunächst, ob sich die Varianzen σ^2 , die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, voneinander unterscheiden. Hierzu prüften wir die Hypothese, daß die beobachteten Varianzen s^2 alles Schätzwerte der gleichen, übergeordneten Varianz σ^2 sind, wobei σ^2 nicht von den Versuchsstufen abhängt. Als Test verwandten wir hierzu den BARTLETT-Test, dessen Ergebnis ebenfalls in der Tabelle 7 wiedergegeben ist. Es bedeutet hierin $\chi^2_{\text{emp.}}$ die Prüfgröße des Tests, n die Zahl der Freiheitsgrade der zugehörigen Chi-Quadrat-Prüfverteilung. p ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welche der beobachteten Prüfgröße $\chi^2_{\text{emp.}}$ in dieser Prüfverteilung zukommt; nur wenn diese Überschreitungswahrscheinlichkeit höchstens 5 % beträgt, liefert der Test einen Hinweis dafür, daß die zu prüfende Hypothese mit den realen Daten nicht verträglich ist. Da dies bei den von uns durchgeführten Tests nicht der Fall ist, darf angenommen werden, daß die Varianzen der Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, untereinander gleich sind. Dies bedeutet, daß die biologische Variabilität zwischen den Tieren in allen Versuchsstufen gleich ist.

Auf Grund des Ergebnisses des BARTLETT-Tests können eventuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsstufen nur noch hinsichtlich des Erwartungswertes μ der Normalverteilung vorliegen. Um zu prüfen, ob dies der Fall ist, führten wir Varianz-Analysen durch, deren Ergebnisse in der Tabelle 8 wiedergegeben sind. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analysen

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianzkomponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianzkomponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianzkomponente;
- $F_{\text{emp.}}$: der Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianzkomponente und der Varianz "innerhalb der Stufen";
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

KATECHOLAMIN

	N	$\bar{x}$	s^2
L	10	22° 82	8° 9358
30'	7	24° 48	9° 3560
60'	7	26° 15	9° 2421
90'	7	18° 83	3° 1016
120'	7	18° 32	3° 6232
150'	7	22° 27	15° 9547

$n = 5$; $x^2_{\text{emp.}} = 5.468$; 30 % $< p$.

ASCORBINSÄURE

	N	$\bar{x}$	s^2
L	10	3° 99	0° 1206
30'	7	3° 36	0° 1504
60'	7	3° 80	0° 0597
90'	7	3° 00	0° 1145
120'	7	3° 18	0° 1251
150'	7	3° 50	0° 2994

$n = 5$; $x^2_{\text{emp.}} = 4.200$; 50 % $< p$.

TABELLE 7

KATECHOLAMIN

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Innerhalb Stufen	39	328 [°] 0883	8 [°] 4125		
Zwischen Stufen	5	334 [°] 3489	66 [°] 8698	7 [°] 95	0 [°] 1 %
Prüfsubstanzen	1	5 [°] 1011	5 [°] 1011	-	
Zwischen Zeiten p. i.	4	329 [°] 2478	82 [°] 3119	9 [°] 78	0 [°] 1 %
Gesamt-Varianz	44	662 [°] 4372	15 [°] 0554		

ASCORBINSÄURE

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Innerhalb Stufen	39	5 [°] 5806	0 [°] 1431		
Zwischen Stufen	5	5 [°] 5949	1 [°] 1190	7 [°] 82	0 [°] 1 %
Prüfsubstanzen	1	2 [°] 9967	2 [°] 9967	20 [°] 94	0 [°] 1 %
Zwischen Zeiten p. i.	4	2 [°] 5982	0 [°] 6495	4 [°] 54	1 %
Gesamt-Varianz	44	11 [°] 1755	0 [°] 2540		

TABELLE 8

Wie bereits bemerkt, ist die Varianz "innerhalb der Stufen" ein Maß für die biologische Variabilität zwischen den Versuchstieren; sie mußte daher der weiteren statistischen Analyse als experimentelle Variabilität zugrunde gelegt werden. Eventuelle Unterschiede zwischen den Erwartungswerten der einzelnen Versuchsstufen kommen in der Varianz-Analyse in der Größe der "Varianz zwischen den Stufen" zum Ausdruck; nur wenn diese Varianz-Komponente gesichert größer ist, als die "Varianz innerhalb der Stufen" kann als statistisch gesichert gelten, daß sich die Erwartungswerte der einzelnen Versuchsstufen voneinander unterscheiden.

Die Varianz-Analysen ergeben, daß die "Varianz zwischen den Stufen" statistisch gesichert wesentlich größer ist als die "Varianz innerhalb der Stufen"; der zugehörige Varianz-Quotient F_{emp.} besitzt jeweils eine Überschreitungswahr-

scheinlichkeit, die nicht größer ist als 0,1 %. Es kann daher mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 0,1 % behauptet werden, daß sowohl bei dem Katecholamin- als auch bei dem Ascorbinsäuregehalt zwischen den Erwartungswerten der Versuchsstufen Unterschiede bestehen.

Eine Inspektion der beobachteten Mittelwerte $\bar{x}$ des Ascorbinsäuregehaltes zeigt, daß der Ascorbinsäuregehalt nach Applikation von Resochin durchwegs niedriger ist als bei den Leer-Tieren. Es war daher zu prüfen, ob dieser generelle Effekt statistisch zu sichern ist. Hierzu führten wir einen orthogonalen Vergleich durch, bei dem wir den generellen Effekt der "Prüfsubstanz" ermittelten. Für den Ascorbinsäuregehalt ergibt sich hierbei - da der zugehörige Varianz-Quotient eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die kleiner als 0,1 % ist - daß mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 0,1 % behauptet werden kann, daß durch die Applikation von Resochin während des gesamten Beobachtungszeitraums eine Erniedrigung des Ascorbinsäuregehaltes bewirkt wird.

Eine entsprechende Aussage läßt sich beim Katecholamingehalt nicht machen; dies ist nicht verwunderlich, wenn man das Verhalten der arithmetischen Mittel $\bar{x}$ beobachtet.

Eine weitere Frage, die zu prüfen war, ist die, ob zwischen den einzelnen Versuchszeiten statistisch gesicherte Unterschiede bestehen, d. h. ob die Wirkung der Resochin-Applikation zeitabhängig ist. Der hierzu durchgeführte orthogonale Vergleich liefert die Varianz-Komponente "zwischen den Zeiten p. i.", deren zugehöriger Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ sowohl beim Katecholamin- als auch beim Ascorbinsäuregehalt eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die kleiner als 0,1 % bzw. kleiner als 1 % ist. Hieraus folgt, daß Größe und Art der Wirkung der Resochin-Applikation von dem Zeitpunkt abhängt, zu der sie beobachtet wird.

Eine zusammenfassende Darstellung der Einzeleffekte gibt die Tabelle 9 für den Katecholamingehalt, die Tabelle 10 für den Ascorbinsäuregehalt. Hier ist für je zwei Versuchsstufen der Unterschied zwischen den zugehörigen arithmetischen Mitteln $\bar{x}$ angegeben, und zwar in der Weise, daß jeweils die Veränderung zu der am Kopfe einer Spalte stehenden Versuchsstufe gegenüber der am Anfang einer Zeile stehenden aufgeführt wurde. Unterhalb der Diagonalen dieser Tabellen sind die Irrtumswahrscheinlichkeiten angegeben, mit denen behauptet werden kann, die betreffende Differenz sei statistisch gesichert von 0 verschieden; d. h. zwischen diesen beiden Versuchsstufen sei eine statistisch gesicherte Veränderung in dem Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt eingetreten. Diese Irrtumswahrscheinlichkeiten wurden mit Hilfe des STUDENT-Tests berechnet. Eine eingehende Diskussion der in diesen Tabellen wiedergegebenen Effekte erscheint nicht notwendig, da diese bereits oben im Zusammenhang mit den Varianz-Analysen diskutiert wurden. Es erscheint lediglich von Bedeutung darauf hinzuweisen, daß der Katecholamingehalt nach Applikation von Resochin zunächst einen Anstieg bis zum Zeitpunkt 60' erfährt, dem sich dann ein Abfall unter das Niveau der Leer-Tiere anschließt. Dieser

Abfall ist statistisch hoch gesichert, wie sich aus der Tabelle 9 ergibt. Aus diesem Verhalten des Katecholamingehältes erklärt sich auch, daß bei der Varianz-Analyse im Mittel während des gesamten Versuchsablaufes eine Veränderung des Katecholamingehältes festgestellt werden konnte.

KATECHOLAMIN

L		30'	60'	90'	120'	150'
L		1.66	3.33	- 3.99	- 4.50	- 0.55
30'	-		1.67	- 5.65	- 6.16	- 2.21
60'	5.0 ‰	-		- 7.32	- 7.83	- 3.88
90'	1.0 ‰	0.1 ‰	0.1 ‰		- 0.51	3.44
120'	1.0 ‰	0.1 ‰	0.1 ‰	-		3.95
150'	-	-	5.0 ‰	5.0 ‰	5.0 ‰	

TABELLE 9

ASCORBINSÄURE

L		30'	60'	90'	120'	150'
L		- 0.63	- 0.19	- 0.99	- 0.81	- 0.49
30'	1.0 ‰		0.44	- 0.36	- 0.18	0.14
60'	-	5.0 ‰		- 0.80	- 0.62	- 0.30
90'	0.1 ‰	-	0.1 ‰		0.18	0.50
120'	0.1 ‰	-	1.0 ‰	-		0.32
150'	5.0 ‰	-	-	5.0 ‰	-	

TABELLE 10

Die Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebenniere nach subkutaner Resochininjektion zeigen einen zweiphasischen Verlauf. Bis 60 Minuten nach Chloroquingabe steigt der Katecholamingehalt um $3,33 \mu$ pro 100 g Tiergewicht gegenüber dem Leerwert an, um bei 90 und 120 Minuten wieder auf $3,99 \mu$ / 100 g Tier bzw. $4,50 \mu$ / 100 g Tier unter den Normalwert abzusinken. Die Differenz zwischen höchstem und niedrigstem Wert beträgt damit $7,32 \mu$. Das Absinken des Katecholamingehaltes ist sowohl gegen den höchsten Wert, als auch gegenüber dem Normalgehalt statistisch abzusichern. Da ein Absinken des Katecholamingehaltes der Nebenniere aus Ausschüttung und etwaiger Neubildung resultiert, sofern man eine Abnahme des Katecholamingehaltes ohne Freisetzung in die Blutbahn nicht annimmt, können die gefundenen Differenzen als Mindestmenge der ausgeschütteten Katecholamine angesehen werden. Da nach MATHIES (7) und SCHEUF-FELE (22) bereits eine Katecholaminmenge von 1μ genügt um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität sichtbar werden zu lassen, dürfte die ausgeschüttete Menge nach Chloroquin in jedem Falle als ausreichend zu betrachten sein. Einen biphasischen Kurvenverlauf sahen MATHIES und VON WERTHER (3, 23) auch bei Moorbädern und Chloraethyl-benz-methoxazon.

BACKMANN (24) stellte in jüngster Zeit fest, daß die auch in den Versuchen dieser Arbeit angewandte und notwendige, kurzzeitige Äthernarkose einen Anstieg des Katecholamingehaltes der Nebenniere bewirken kann. Es ist damit fraglich, inwieweit die erste Phase eines Anstiegs über den Normalgehalt auf die Äthernarkose zurückgeführt werden muß. Deshalb kann unter Umständen nur der nachfolgende Abfall unter das Normal-Niveau im Hinblick auf eine Ausschüttung von Bedeutung sein. Da die Differenz von dem niedrigsten Wert gegenüber dem Normalwert aber immer noch $4,5 \mu$ beträgt und statistisch gesichert werden konnte, dürfte auch diese Menge für ein Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung ausreichend sein.

Die Bestimmungen des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere zeigen mit einem Abfall von maximal $0,99 \mu$ pro 1 mg Nebennierengewicht, der mit 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit gesichert werden konnte, eine Aktivierung der Nebennierenrinde. Nach den Untersuchungen von MATHIES, FUCHS und HIEKMANN (25) wird dieses Verhalten jedoch auch durch die Versuchsbedingungen ohne Mitwirkung einer hyaluronidasehemmenden Substanz bewirkt, wenn nicht eine ausreichende Gewöhnung der Tiere, wie MATHIES (5) und JUNG (8) gezeigt haben, den eigentlichen Experimenten vorausgeht. Da in unseren Versuchen diese Bedingungen erfüllt waren, kann der Abfall des Ascorbinsäuregehaltes und damit eine Aktivierung der Nebennierenrinde als zutreffend angesehen werden.

Die Versuche haben damit gezeigt, daß durch Chloroquin, wie bei anderen hyaluronidasehemmenden Stoffen, Nebennieren-Mark und Nebennieren-Rinde aktiviert werden. Die Stimulierung der Nebennieren-Rinde hat dabei, wie eingangs

erwähnt wurde, vermutlich keine Bedeutung für die Hemmung der Hyaluronidase-aktivität. Auch die Aktivierung des Nebennieren-Marks scheint nach den eingangs erwähnten Untersuchungen von WILL (17) nur bedingt eine Bedeutung der Hyaluronidasehemmung zu besitzen, da auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung sichtbar ist. Das Ausmaß der Hemmung scheint jedoch bei adrenaletomierten Tieren etwas geringer zu sein.

Auf jeden Fall bewirkt eine Katecholaminausschüttung eine Hemmung des Hyaluronidasespreadings. Es muß demnach angenommen werden, daß die Hemmung des Hyaluronidasespreadings durch Chloroquin über zwei Wege läuft. Der eine führt vermutlich über eine Aktivierung des Nebennieren-Marks, während der andere von ihm unabhängig und nicht näher bekannt ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Gehalt an Katecholamin in den Nebennieren von Ratten nach Behandlung mit Resochin verändert sich, wie die vorliegenden Versuche zeigen zunächst in Form eines Anstiegs, dann aber eines Abfalls der γ Werte. Die im gleichen Arbeitsgang ermittelten Werte des Ascorbinsäuregehaltes unterliegen einem Abfall unter das Normalniveau.

Da der anfängliche Anstieg und folgende Abfall des Katecholamins und der dauernde Abfall unter die Normalwerte der Ascorbinsäure nach Gaben von Resochin gegenüber unbehandelten Tieren statistisch gesichert werden konnten, kommt man zusammenfassend zu dem Schluß, daß durch Chloroquin eine Aktivierung, sowohl des Nebennieren-Marks, als auch der Nebennieren-Rinde erfolgt.

Eine solche Aktivierung bedeutet dann eine Hemmung des Hyaluronidasespreadings durch Chloroquin. Dabei müssen aber zwei Wege angenommen werden, der eine führt über die Aktivierung des Nebennieren-Marks, über den anderen liegen noch keine Untersuchungen vor.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Mathies, H. und Jankowski, A.:
Klin. Wschr. 17 892 (1957)
2. Mathies, H.:
Arzneim. Forsch. 8 233 (1958)
3. Mathies, H. und Werther, G. v.:
Arzneim. Forsch. 9 576 (1959)
4. Mathies, H.:
Zschr. ges. exper. Med. 131 118 (1959)
5. Mathies, H.:
Zschr. Rheumaforsch. 18 308 (1959)
6. Mathies, H. und Werther, G. v.:
Zschr. angew. Bäder-Klima-Kd. 5 503 (1959)
7. Domenjoz, R.:
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 255 14 (1955)
8. Jung, M.:
Diss. München in Vorbereitung
9. Sayers, G. und Sayers, M.:
Ann. N. Y. Acad. Sci. 50 522 (1949)
10. Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. und Schmidt, S.:
Med. Exper. 1 64 (1959)
11. Mathies, H. und Vogel, M.:
Zschr. ges. exper. Med. im Druck
12. Mathies, H.:
Arch. internat. pharm. Codyn. et Théor. im Druck
13. Mathies, H. und Weiß, G.:
Im Manuskript
14. Schwalbach, K.:
Diss. München 1959
15. Oestreich, G.:
Diss. München in Vorbereitung
16. Eichholtz, F.:
Lehrbuch der Pharmakologie 80 (1957)
Springer Berlin/Göttingen/Heidelberg
17. Will, E.:
Diss. München in Vorbereitung
18. Mathies, H.:
Med. Klin. 52 1676 (1957)
19. Mathies, H.:
Med. Monschr. 12 791 (1957)
20. Brüggemann, J., Karg, H. und Kappeler, O.:
Vitamine u. Hormone 7 200 (1956)

21. Hökfelt, B.: Act. Physiol. Scand. 25 Suppl. 92 (1951)
22. Scheuffele, R.: Diss. München 1958
23. Mathies, H. und Werther, G. v.:
Zschr. angew. Bäder-Klima-Kd. 5 582 (1958)
24. Backmann, K. J.: Diss. München in Vorbereitung
25. Mathies, H., Fuchs, E. und Hiekmann, D.
Fundamenta balneologica im Druck

Abschließend darf ich Herrn Professor Dr. W. SEITZ für die Überlassung des Themas danken.

Herrn Dr. H. MATHIES danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die bei ihrer Abfassung erwiesene Unterstützung, ebenso Herrn K. LIEBRICH für die Beratung in der statistischen Auswertung.

L E B E N S L A U F

Am 8. August 1933 wurde ich, Horst Friedrich Haas, als Sohn des Apothekers Fritz Haas und seiner Ehefrau Maria geb. Schwer in Wallerstein Kreis Nördlingen geboren.

Von 1939 - 1944 besuchte ich die Volksschulen in Stuttgart-Obertürkheim und Penzberg Obb.

1945 trat ich in das Georgii-Gymnasium in Esslingen am Neckar ein und legte dort im Frühjahr 1954 die Reifeprüfung ab.

Bis zum Beginn des Medizinstudiums im Wintersemester 1955/56 besuchte ich ein Jahr die Bayerische Staatslehranstalt für Lichtbildwesen.

Die ärztliche Vorprüfung legte ich im Frühjahr 1958 in München ab.

